Journal of Plant Protection
Vol. 34, No. 3, Fall 2020, P. 337-346

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، ص. ۳۴۶-۳۳۷

مقاله علمی-پژوهشی

# تأثیر *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis* بر بیماری‌زایی *Meloidogyne javanica* در سه رقم هلو در شرایط گلخانه

اکرم عبداللهی ارجنکی[1]- ناصر پنجه‌که[2]- علی‌اکبر فدایی تهرانی[3*]- محمد سالاری[4]- عبدالحسین طاهری[5]

تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۵/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۴

## چکیده

تعدادی از باکتری‌های غیربیماری‌زای گیاهی می‌توانند فعالیت‌های مختلف میکروارگانیسم‌هایی همچون نماتدهای بیماری‌زای گیاهی را تحت تأثیر قرار دهند. در این تحقیق، جهت بررسی اثر این باکتری‌ها بر بیماریزایی و خسارت نماتد *Meloidogyne javanica* روی هلو، از دو گونه باکتری *Bacillus cereus* IPRI95 و *B. subtilis* VUPF52 و سه نوع پایه هلو استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در شرایط گلخانه انجام پذیرفت. ارزیابی نتایج سه ماه بعد از مایه‌زنی گیاهان با نماتد با استفاده از شاخص‌های رشدی گیاهان سالم و آلوده به نماتد و پارامترهای رشدی نماتد در گیاهان آلوده انجام شد. تجزیه و تحلیل نتایج بیانگر اثر مثبت باکتری‌های مورد استفاده در افزایش شاخص‌های رشدی ارقام مختلف هلو و کاهش پارامترهای رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی بود. با اینحال میزان افزایش در تیمارهای مختلف متفاوت بود. برای مثال بیشترین و کمترین میزان رشد شاخه به ترتیب در رقم هلندری غیرآلوده در حضور *B. subtillis* (۴۳/۵) و رقم GF677 آلوده به نماتد و بدون باکتری (۸/۳) مشاهده شد. همچنین حضور باکتری *B. subtillis* باعث کاهش ۴۸/۴ و ۴۶/۸ درصدی به ترتیب در میانگین تعداد گال و تعداد کیسه تخم نماتد در گرم ریشه رقم GF677 نسبت به شاهد (بدون باکتری) کاهش گردید.

**واژه‌های کلیدی**: باسیلوس، پایه هلو، مهار زیستی، نماتد ریشه‌گرهی

## مقدمه

هلو با نام علمی *Prununs persica* L. Batsch به عنوان یکی از مهمترین محصولات باغی از اهمیت اقتصادی ویژه‌ای در بین محصولات کشاورزی برخوردار است میزان تولید سالانه آن در جهان حدود ۲۱/۵ میلیون تن است که ایران با تولید ۵۹۱ هزار تن، رتبه پنجم دنیا و مقام اول منطقه خاورمیانه را به خود اختصاص داده است (۱۴). پرورش و تولید هلو مانند سایر محصولات باغی با عوامل محدودکننده‌ی متعددی روبه‌رو می‌باشد. نماتدها گروهی از جانوران پر سلولی هستند که برخی از گونه‌های آنها با تغذیه ازگیاهان سبب ایجاد بیماری می‌شوند (۲۶). نماتدهای انگل گیاهی سالیانه خسارت زیادی به محصولات مختلف وارد می‌کنند که بیشترین خسارت مربوط به نماتدهای ریشه‌گرهی متعلق به جنس *Meloidogyne* است (۸). نماتد ریشه‌گرهی با کاهش رشد و قدرت گیاه، باعث زوال زودرس درختان هلو (دو سال بعد از کاشت) می‌شوند (۲۰). میزان خسارت ناشی از حمله نماتد ریشه‌گرهی وابسته به عوامل متعددی چون نوع رقم، شرایط آب و هوایی، نوع خاک و مهمتر از همه میزان جمعیت نماتد در خاک می‌باشد مهار نماتد ریشه‌گرهی به دلایل مختلف از جمله دامنه میزبانی وسیع، سرعت بالای تکثیر و کوتاه بودن سیکل زندگی، مشکل می‌باشد (۱۳). از طرفی طیف وسیعی از باکتری‌ها نظیر *Pseudomonas*، *Azospirillum*، *Bacillus*، *Xanthomonas* و *Enterobacter* در فراریشه گیاهان زندگی می‌کنند که فعالیت آنها سبب تقویت رشد گیاهان در شرایط مختلف تنش از جمله حمله عوامل بیماری‌زا می شوند (۱۱). در این بین گونه‌های تشکیل دهنده اسپور (گونه‌های باسیلوس) و باکتری سودوموناس فلورسنت غالب ترین باکتری‌های هستند که قادر به کنترل نماتدها می‌باشند (۱۶). بررسی‌های گسترده‌ای درباره رایزوباکتری‌های فراریشه انجام شده است و نتایج حاصل، تأثیرپذیری بالای جدایه‌های جنس باسیلوس را در کنترل نماتدهای پارازیت گیاهی نشان می‌دهد (۲۷). استفاده از گونه‌های *Bacillus amyloliquefaciens*، *B. mycoides*، *B.*

---

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیاران گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
(*- نویسنده مسئول: Email: ma_fadaei@yahoo.com)
۳- دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۵- دانشیار مرکز هیات‌های امنا و هیات‌های ممیزه وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
DOI: 10.22067/jpp.v34i3.87579

*cereus*، *B. subtilis*، *B. pumilus*، *B. megaterium* به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک، نشان دادند که این گونه‌ها به طور موثری می‌توانند نماتدهای متعلق به جنس‌های *Meloidogyne* و *Heterodera* را کنترل کنند (۶). مطالعات ناگش و همکاران در سال ۲۰۰۵، بر اهمیت استفاده از جنس باسیلوس تأکید دوباره دارند. براین اساس کشت فیلتره شده سوسپانسیون باکتری *Bacillus cereus*، تفریخ تخم نماتد را به میزان ۹۰ درصد کاهش می‌دهد و در مرگ و میر لاروها تأثیر قابل توجهی نیز دارد (۱۹). کاربرد استرین *B. subtilis* 7612 به تنهایی یا در ترکیب با قارچ‌های آنتاگونیست نتایج معنی‌داری در افزایش طول و وزن خشک اندام هوایی در گوجه‌فرنگی در حضور نماتد *M. incognita* در قیاس با تیمار شاهد بدون تلقیح نشان داد به طوری که این باکتری به تنهایی سبب افزایش ۳۲/۴ درصدی وزن خشک اندام هوایی گیاه و در ترکیب با قارچ آنتاگونیست *Aspergillus niger* سبب افزایش بیشتر ۶۰/۹ درصدی در وزن خشک اندام هوایی گیاهان آلوده به نماتد ریشه‌گرهی گردید (۲۸). تحقیقات زیادی بر روی اثر بازدارندگی گونه‌های مختلف جنس باسیلوس علیه گونه‌های بیمارگر *Meloidogyne* بر روی گیاهان مختلف انجام پذیرفته است (۹، ۱۱ و ۲۹). استفاده از باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه برای کشاورزی پایدار به طور گسترده و چشمگیری در نقاط مختلف جهان در حال گسترش می‌باشد. افزایش قابل توجه در رشد و بازده محصولات کشاورزی به دنبال مایه‌زنی آن‌ها با باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه گزارش شده است، لذا با توجه به خسارت گسترده نماتد ریشه‌گرهی در باغات کاربرد عوامل کنترل بیولوژیک در برنامه تلفیقی ضروری به نظر می رسد برای این منظور تأثیر دو گونه *B. subtilis* VUPF52 و *B. cereus* IPRI95 در کنترل نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* و فاکتورهای رشدی در سه رقم پایه رویشی هلو (GF677 و هلندری و رقم محلی شورابی) در شرایط گلخانه بررسی گردید.

## مواد و روش‌ها

### تهیه مایه تلقیح باکتری

در این تحقیق از دو گونه باکتری *Bacillus cereus* IPRI95 و *Bacillus subtilis* VUPF52 (اهدا شده توسط کلکسیون آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه شهرکرد) استفاده گردید. برای خالص‌سازی و تکثیر باکتری ، از کشت استرین‌های باکتریایی در محیط آگار غذایی Nutrient Agar (NA) به مدت۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس استفاده شد. باکتری‌ها زیر پارافین مایع و در دمای ۵ درجه یخچال نگهداری شدند. و تهیه سوسپانسیون با جمعیت مورد نظر $۱۰^{۷}$ (CFU/ml) با استفاده ازآب مقطر استریل و کدورت‌سنجی با اسپکتروفوتومتر صورت گرفت.

### تهیه مایه تلقیح نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

به منظور تهیه مایه تلقیح نماتد، ابتدا از باغات هلو مشکوک به آلودگی واقع در شهرستان سامان استان چهارمحال و بختیاری تعدادی نمونه‌ی ریشه‌ی آلوده همراه خاک اطراف آنها جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس توده‌های تخم موجود روی ریشه جدا و در ظروف جداگانه قرار داده شدند جهت تکثیر و تولید جمعیت خالص نماتد، تخم‌های هر یک از توده‌های تخم جدا شده مطابق روش هوسی و بیکر (۱۹۷۳) استخراج و یک هفته بعد از نشا گیاهچه گوجه‌فرنگی حساس رقم فلات، در کنار ریشه آن قرار گرفت (۱۰). گیاهان مذکور در شرایط گلخانه در دمای ۲۵-۲۸ درجه سلسیوس و ۱۴ ساعت روشنایی با آبیاری مناسب (دوره سه روزه) نگهداری و اجازه داده شد حداقل سه نسل نماتد طی شود تا جمعیت کافی برای آزمایش از یک توده تخم حاصل گردد. برای تعیین گونه نماتد، بعد ازگذشت سه ماه بعضی از ریشه‌های آلوده از خاک خارج و پس از شستشو با آب، در زیر میکروسکوپ تشریح تعدادی از ماده‌های بالغ از بافت خارج و پس از تثبیت و آبگیری، از آنها اسلایدهای دائمی تهیه گردید. سپس خصوصیات ریخت سنجی و ریخت شناسی آنها بررسی و اندازه گیری شد. جهت بررسی الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن پس از آماده سازی ماده‌ها در اسید لاکتیک از قسمت انتهایی آنها برش عرضی تهیه گردید (۳۱).

### تهیه پایه‌های مختلف هلو

به منظور یکسان‌سازی مراحل رشدی پایه‌های بذری هلو با قلمه های ریشه‌دار شده سایر پایه‌ها، بذور هلو ابتدا ضدعفونی سطحی و به مدت یک هفته در آب خیسانده شدند و بعد از خشک کردن آنها در دمای ۵ درجه سلسیوس به مدت یک ماه سرمادهی شد و سپس بذرها در عمق ۶ تا ۸ سانتی‌متری گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۳ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر، حاوی مخلوط خاک، ماسه و پرلایت با نسبت حجمی ۱:۱:۲ که قبلاً با گاز متیل بروماید به میزان۱۵۰ گرم در متر مکعب خاک ضدعفونی شده بود کشت گردید. هنگامی که نهال‌ها به ارتفاع حدود ۳۰ سانتی‌متر رسیدند قلمه‌های ریشه‌دار شده رقم GF677، هیبرید محلی هلو×بادام شورابی با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر از مرکز تولید پایه‌های رویشی بادام در منطقه سامان استان چهارمحال و بختیاری تهیه و به گلدان‌های مشابه منتقل شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه دانشگاه شهرکرد با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰-۸۰ درصد و دوره نوری ۱۳ ساعت روشنایی، ۱۱ ساعت تاریکی نگهداری و آبیاری منظم دو بار در هفته انجام گرفت.

### بررسی تأثیر باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* بر بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی در پایه‌های هلو

بررسی تأثیر عوامل باکتریایی *B. cereus* و *B. subtilis* بر نماتد

ریشه‌گرهی روی پایه‌های رویشی هلو بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. بدین صورت که خاک گلدان‌ها قبل از کاشت نهال ضدعفونی شده، و سپس نهال‌ها کاشته شد پس از استقرار پایه‌ها کشت مایع سه روزه جدایه‌ی هر باکتری با غلظت ۱۰^۷ واحد تشکیل دهنده‌ی کلنی در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه شده و میزان ۱۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون از هر باکتری همراه آب مورد نیاز برای اشباع خاک اطراف گیاهچه در هر تیمار اضافه شد. دو روز بعد از تیمار گیاهان با باکتری، مایه‌زنی نماتد با ۲۰۰۰ تخم به همراه لارو نماتد به ازای هر کیلوگرم خاک، از طریق حفره‌های ایجاد شده در اطراف نهال‌ها انجام شد. گیاهان آزمایشی برای سپری شدن حداقل سه نسل نماتد، مدت سه ماه در شرایط مناسب گلخانه با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰–۸۰ درصد و دوره نوری (۱۳ ساعت روشنایی، ۱۱ ساعت تاریکی) نگهداری و آبیاری منظم دو مرتبه در هفته انجام گرفت. در پایان آزمایش شاخص‌های رشد و نموی مربوط به گیاه (ارتفاع اندام‌های هوایی، طول ریشه، وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه) و شاخص رشدی نماتد (تعداد گال، تعداد لارو سن دوم، تعداد توده تخم در ریشه گیاه و تعداد تخم در هر توده تخم و همچنین فاکتور تولیدمثلی از طریق فرمول $Rf = \frac{Pf}{Pi}$ که در آن Rf برابر فاکتور تولیدمثل، Pf برابر جمعیت نهایی (تعداد کل تخم‌ها و لاروها موجود در ریشه گیاه و خاک گلدان) و Pi جمعیت اولیه نماتد است محاسبه گردید (۲۲) و به کمک نرم‌افزار SAS 9.4 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها در تمام حالات توسط آزمون محافظت شده LSD و در سطح ۵٪ صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### تشخیص گونه نماتد

انحنای نسبتاً کم کمان پشتی و مشاهده شیارهای مشخص جانبی در الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده و طول استایلت ماده (متوسط ۱۶ میکرون) با شرح اصلی گونه *M. javanica* تطابق نشان داد. بلندی دو میکرونی ناحیه سر و هم‌تراز بودن آن با بدن، طول بدن ۵۳۵ (۴۱۰–۵۶۰) میکرومتری، استایلت ۱۱ (۱۰–۱۲) میکرومتری با گره‌های مشخص و دم ۵۲ میکرومتری با بخش روشن انتهایی ۱۳ میکرومتری از جمله خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی لاروهای سن دوم نماتد مورد بررسی بودند که با شرح گونه مذکور مطابقت نشان دادند (۱۲).

### تأثیر باکتری‌های *B. subtilis* و *B. cereus* بر بیماری‌زایی و خسارت نماتد ریشه‌گرهی روی پایه‌های رویشی هلو

ارزیابی نتایج این بررسی بر اساس شاخص‌های رشدی پایه‌های مورد بررسی و پارامترهای تکثیری نماتد انجام شد:

**شاخص‌های رشدی گیاه:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی پایه‌های مورد بررسی ناشی از حضور باکتری‌های بیوکنترلی در گیاهان غیرآلوده و آلوده به نماتد بیانگر اثر معنی‌دار باکتری‌های مذکور بود (جدول ۱). مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف نیز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین اکثر تیمارهای مورد بررسی است بدین ترتیب که آلودگی به نماتد در شرایط عدم حضور عوامل بیوکنترل باعث کاهش معنی‌دار شاخص رشدی در تمام پایه‌های رویشی نسبت به تیمارهای دیگر گردید. به طوری که مایه زنی پایه‌های هلو با نماتد سبب کاهش طول ساقه به میزان ۳۴ و ۳۰ درصد به ترتیب در رقم‌ها GF677 و رقم محلی شورابی در مقایسه با تیمار شاهد گردید. نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها در رقم GF677 نشان داد، طول ساقه در گیاهان مذکور تیمار شده با دو استرین باکتریایی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد دارند. به طوری که بیشترین طول ساقه (۴۳/۵ سانتی‌متر) و کمترین آن (۸/۳ سانتی‌متر) به ترتیب در رقم هلندری غیرآلوده به نماتد و حضور باکتری و رقم GF677 آلوده بدون حضور باکتری به دست آمد. کواریوم و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش دادند به طوری که در چغندرقند ژنوتیپ‌های حساس‌تر به نماتد ریشه‌گرهی دارای رنگدانه فتوسنتزی و رشد کمتر در مقایسه با ژنوتیپ مقاوم بودند (۱۸). طول ریشه نیز به دنبال آلوده‌شدن با نماتد در مقایسه با تیمار شاهد، ۱۴ و ۵۰ درصد به ترتیب در رقم‌های هلندری و GF677 کاهش نشان داد. این در حالی است که به دنبال تیمار ریشه‌های هلو با استرین‌های باکتریایی افزایش معنی‌داری در طول ریشه شاهد بودیم به طوری که حداکثر طول ریشه در رقم هلندری در تیمار با استرین *B. subtillis* و در رقم GF677 به دنبال تیمار با *B. cereus* حاصل شد. میزان این افزایش برابر با ۲۶/۶ و ۶۵/۱ درصد به ترتیب در رقم‌های هلندری و GF677 در مقایسه با تیمار شاهد به دست آمد. افزایش قابل توجه طول ریشه در رقم GF677، شاید به دلیل ترشحات ریشه و کلنیزاسیون بیشتر ریشه‌های این رقم باشد به طوری که والتر و همکاران عقیده دارند که عکس‌العمل ریزوباکتری‌های به ترشحات ریشه گیاهان مختلف متفاوت است (۳۵). باکتری *Bacillus* قادر به تولید طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌های افزایش‌دهنده رشد است (۴ و ۳۰). به نظر می‌رسد ترکیات هورمونی مترشحه از باکتری اثر چشمگیری در فعالیت‌های رشدی گیاه دارد چرا که ترکیبات رشدی نقش مهمی در متحمل کردن گیاه به بیماری‌های ریشه داشته و باعث می‌شوند ریشه‌های آسیب دیده به سرعت توسط ریشه‌های جدید جایگزین شده و به این ترتیب ریشه‌های آسیب دیده به سرعت با ریشه‌های جدید جایگزین شوند و خسارت بیماری کاهش یابد. همچنین تغییرات کمتری در طول سیستم ریشه در رقم شورابی که با استرین‌های مختلف مایه‌زنی شده بودند نسبت به رقم GF677 و

هلندری در شرایط عدم حضور و همچنین حضور نماتد مشاهده گردید (جدول ۲). نتایج نشان‌دهنده تأثیر حضور نماتد بر کاهش وزن‌تر ساقه بود به طوری که به دنبال تیمار با عوامل بیوکنترلی این شاخص را افزایش داد. نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها حاکی از کاهش وزن‌تر ساقه در پایه‌های هلو مایه‌زنی شده با نماتد برابر با ۳۵، ۴۰/۵۹ و ۷۵/۱ درصد به ترتیب برای ارقام هلندری، GF677 و شورابی بود. در رقم حساس GF677 نیز گیاهان آلوده و تیمار شده با باکتری *B. cereus* نه تنها کاهش رشد دیده نشد بلکه میزان وزن‌تر ساقه ۷۰/۸۵ درصد افزایش داشت. گرچه بین دو جدایه‌های باکتری در اکثر شاخص‌های رشدی تفاوت معنی‌داری نبود. همچنین نتایج نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اثر رقم، تیمار باکتریایی و نماتد و برهمکنش آنها در سطح پنج درصد بر وزن‌تر ریشه پایه‌های هلو می باشد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که مایه‌زنی با نماتد سبب افزایش وزن‌تر ریشه هلو نسبت به گیاهان شاهد گردید که این میزان برابر با ۲۷/۶، ۸۷/۸ و ۴۶/۱ به ترتیب برای ارقام هلندری، GF677 و رقم محلی شورابی بود که احتمالاً در نتیجه تشکیل گال فراوان در ریشه این تیمارها بود. همچنین نتایج این مطالعات نشان داده است که همزمان با ورود لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی در ریشه، آنزیم پروتئاز ترشح می‌گردد که سبب شکستن پروتئین‌های گیاه میزبان به اسیدهای آمینه می‌شود. تمرکز اسیدآمینه به خصوص تریپتوفان که پیش نیاز تولید ایندول استیک اسید است موجب تجمع اکسین و عدم تعادل هورمونی در محل تغذیه‌ای نماتد می‌گردد. در این مکان به جای رشد طولی سلول‌های پارانشیمی پوست، رشد عرضی اتفاق می افتد و موجب هیپرتروفی و ایجاد گال در محل ورود لارو سن دوم می‌شود. بنابراین افزایش وزن‌تر و وزن خشک ریشه در اثر حمله نماتد ریشه‌گرهی به دلیل تشکیل گال می‌باشد (۲۳). همچنین نتایج مطالعات نشان داد استرین‌های *B. subtilis* و *B. amyloliquefaciens* برخی مواد افزایش‌دهنده رشد گیاهی چون جیبرلین، اندول استیک اسید را در محیط فرا ریشه ترشح می‌نمایند (۳۳). نتایج این بررسی مطابق با دیگر نتایج تحقیقات انجام شده در این زمینه است (۲، ۲۵ و ۳۰).

**شاخص‌های تکثیری نماتد:** آنالیز آماری انجام شده نشان داد که دو جدایه باکتری نام برده شده علاوه بر تأثیر بر فاکتورهای رشدی پایه‌های رویشی، روی شاخص‌های تکثیری نماتد و کاهش بیماری نیز تأثیر بسزایی داشتند. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین پارامترهای رشدی نماتد ریشه‌گرهی در تیمارهای مختلف نشان‌دهنده اثر معنی‌دار کاربرد عوامل باکتریایی مهار زیستی بر بیماری‌زایی نماتد در همه پایه‌های رویشی بود (جداول ۳ و ۴). به طوریی که تعداد گال و کیسه تخم در هر سه رقم کاهش نشان داد. میانگین تعداد گال در یگ گرم ریشه در رقم GF677 تیمار شده با باکتری *B. subtilis* و *B. cereus* به ترتیب ۴۸/۴ و ۴۰/۶۸ درصد در مقایسه با شاهد بدون باکتری کاهش یافت.

**جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی سه پایه هلو در تیمارهای مختلف مایه‌زنی شده با *B. subtilis* و *B. cereus* و نماتد *Meloidogyne javanica***

**Table 1- The results of analysis of variance of the growth parameters in three peach rootstocks in different treatments inoculated with *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* and *Meloidogyne javanica***

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی DF | میانگین مربعات Mean of square | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | اندام هوایی | | | ریشه | | |
| | | طول Shoot length (cm) | وزن تر Shoot fresh weight (gr) | وزن خشک Shoot dry weight (gr) | طول Root length (cm) | وزن تر Root fresh weight(gr) | وزن خشک Root dry weight (gr) |
| Bacteria باکتری | 2 | 233.3* | 31.7* | 12.9* | 369.5* | 66.7* | 17.4 ns |
| Nematode نماتد | 1 | 718.2* | 155.5* | 64.1* | 139.5* | 75.1 ns | 99.6* |
| Variety رقم | 1 | 3460* | 13.9* | 8.8* | 2295.2* | 558.2* | 175.2* |
| Bacteria* nematode باکتری* نماتد | 2 | 52 | 13.3* | 4.7* | 196.4* | 262.3* | 76.2* |
| Bacteria *Variety رقم * باکتری | 2 | 13.2ns | 20.9* | 7.7* | 76.6* | 122.9* | 44* |
| Variety *Nematode رقم * نماتد | 4 | 213.4* | | | | | |
| رقم *نماتد *باکتری | 2 | 12.8ns | 11.6* | 5.3* | 1.6 ns | 31.3 ns | 14.7 ns |
| Variety*nematode*bacteria | 4 | 5.9ns | 14.7* | 6.9* | 171.3* | 220.7* | 52.9* |
| خطای آزمایش error | 72 | 14.9 | 1.1 | ۰.6 | 8.4 | 11.5 | 4.2 |
| CV% | | 14.6 | 24.6 | 32.8 | 13.4 | 30.1 | 32.7 |

Data are means of five replicates

*: significant difference at 5%,. ns: no significant difference

**جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی سه پایه هلو در تیمارهای مختلف مایه‌زنی شده با باکتری‌های *B. subtilis* و *B. cereus* آلوده به *M. javanica* در شرایط گلخانه**

**Table 2- Mean comparison of the growth indices in three peach rootstocks in different treatments inoculated with *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* infected to *Meloidogyne javanica* in greenhouse conditions**

| Treatment تیمار | | | Mean of square میانگین | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| رقم Variety | باکتری Bacteria | نماتد Nematodea | طول ساقه Shoot length (Cm) | وزن تر ساقه Shoot fresh weigth (gr) | وزن خشک ساقه Shoot dry weigth (gr) | طول ریشه Root length (Cm) | وزن تر ریشه Root fresh weight (gr) | وزن خشک ریشه Root dry weigh t (gr) |
| هلندری Helendri | ۰ | − | 36.8$^{c}$ | 3.6$^{fe}$ | 1.8$^{hijg}$ | 24$^{fge}$ | 9.9e$^{dgf}$ | 4.8$^{egf}$ |
| | | + | 32.2$^{ec}$ | 2.3$^{hig}$ | 1.7$^{hijg}$ | 20.6$^{g}$ | 13.7$^{edc}$ | 8.9$^{bc}$ |
| | BS | − | 43.5$^{a}$ | 9.8$^{a}$ | 6.4$^{a}$ | 32.7$^{b}$ | 14.1$^{dc}$ | 7.9$^{dc}$ |
| | | + | 40$^{a}$ | 3.1$^{hfg}$ | 1.7$^{hijg}$ | 28.1$^{dc}$ | 16.5$^{bc}$ | 10.9$^{b}$ |
| | BC | − | 34.3$^{c}$ | 6.5$^{bc}$ | 4.6$^{b}$ | 28.2$^{dc}$ | 9.5$^{ehgf}$ | 4.7$^{egf}$ |
| | | + | 26.5$^{f}$ | 2.6$^{hfg}$ | 1.5$^{hijk}$ | 28.2$^{dc}$ | 13.3$^{edc}$ | 8.5$^{bc}$ |
| GF677 | ۰ | − | 12.1$^{kj}$ | 3.6$^{fe}$ | 2.2$^{hefg}$ | 13.4$^{hi}$ | 2.3$^{k}$ | 1.5$^{i}$ |
| | | + | 8.3$^{l}$ | 2.1$^{hig}$ | 1.09$^{ijk}$ | 26.9$^{de}$ | 19.5$^{b}$ | 10.7$^{b}$ |
| | BS | − | 16$^{kj}$ | 5$^{dc}$ | 3.2$^{dec}$ | 31.2$^{bc}$ | 13$^{edc}$ | 5.4$^{edf}$ |
| | | + | 11.7$^{k}$ | 1.9$^{hi}$ | 1$^{jk}$ | 22.6$^{fg}$ | 10.3$^{edgf}$ | 6.5$^{edc}$ |
| | BC | - | 22.3$^{h}$ | 6$^{c}$ | 3.6$^{dbc}$ | 38.4$^{a}$ | 28.1$^{a}$ | 14.8$^{a}$ |
| | | + | 16.8$^{j}$ | 7.4$^{b}$ | 3.9$^{bc}$ | 25$^{fde}$ | 12.1$^{edf}$ | 7.1$^{edc}$ |
| شورابی Shorabi | ۰ | - | 29.6$^{ef}$ | 4.7$^{de}$ | 2.6$^{defg}$ | 10.1$^{i}$ | 14.01$^{jk}$ | 2.06$^{ih}$ |
| | | + | 20.5$^{h}$ | 1.1$^{i}$ | .66$^{k}$ | 10.2$^{i}$ | 7.4$^{ihgj}$ | 4.5$^{eghf}$ |
| | BS | - | 33$^{c}$ | 5.7$^{dc}$ | 2.9$^{defc}$ | 13.06$^{hi}$ | 5.6$^{ihjk}$ | 2.6$^{igh}$ |
| | | + | 28.1$^{ef}$ | 3.5$^{fe}$ | 2.1$^{hfg}$ | 10.9$^{hi}$ | 8.6$^{ihgf}$ | 5.3$^{edf}$ |
| | BC | - | 34.6$^{c}$ | 4.6$^{de}$ | 2.1$^{hifg}$ | 14.2$^{h}$ | 5.02$^{ijk}$ | 2.9$^{ighf}$ |
| | | + | 27.3$^{f}$ | 1.2$^{i}$ | .69$^{k}$ | 10.3$^{i}$ | 6.5 $^{ihgjk}$ | 3.3$^{ighf}$ |

BS: B. subtilis
BC: B. cereus

با استفاده از آزمون LSD میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند، هر تیمار نیز میانگین پنج تکرار می‌باشد.

Values followed by the same letter are not significantly different using LSD test ($P \leq 0.05$, n= 5)

بیشترین توده تخم نیز در پایه GF677 بدون عامل مهار زیستی و کمترین آن در پایه هلندری تیمار شده با باکتری *B. subtilis* مشاهده شد. سایر شاخص‌ها (تعداد تخم در توده تخم، تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک و فاکتور تولید مثل) نیز اثرات مشابهی نشان دادند (جدول۲). در این میان تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده تخم کاهش بیشتری نشان دادند به عبارت دیگر استفاده از باکتری مختلف زیستی روی تمام مراحل رشدی نماتد موثر بودند البته توانایی باکتری‌ها در کاهش فاکتورهای تکثیری نماتد در رقم حساس به نماتد (Gf) با ارزش بود. نتایج این بررسی همچنین نشان داد که متوسط جمعیت لارو سن دوم در بستر تیمارهای همراه با نماتد به تنهایی در مقایسه با تیمارهای دارای باکتری دارای اختلاف معنی داری هستند. تعداد لارو سن دوم نماتد در حضور باکتری‌ها *B. subtilis* به میزان ۶۷/۷۳، ۵۲/۵۲ و ۱۲/۶درصد به ترتیب در ارقام هلندری، GF677 و رقم محلی شورابی نسبت به شاهد کاهش نشان دادند. این نتایج با مطالعات اخیر که نشان‌دهنده توانایی بالای باکتری *Bacillus* در کنترل نماتد ریشه‌گرهی می‌باشد مطابقت دارد (۳۰ و ۲۲). در بررسی مشخص شد که باکتری *B. cereus* دارای اثر نماتدکشی روی لاروها و تخم نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* می شود و سبب محافظت از ریشه‌های گوجه‌فرنگی در برابر این نماتد شده است (۲۱). گونه‌های مختلف از جنس باسیلوس مانند *B. amyloliquefaciens*، *B. cereus*، *B. megatrium* اثرات آنتاگونیستی علیه نماتدهای جنس *Meloidogyne* و *Heterodera* نشان داده‌اند (۳). کاهش نماتدهای انگل گیاهی توسط *B. subtilis* ممکن است از طریق مکانیزم‌های مختلفی مثل پارازیتیسم مستقیم، تولید آنزیم‌های خارج سلولی و هورمون‌های گیاهی، تحریک واکنش های دفاعی میزبان باشد که موجب کاهش در فعالیت فاکتورهای

تفریخ تخم، کاهش گال، تغییر ترشحات ریشه، جلوگیری از نفوذ نماتد به ریشه می‌گردد (۱۵). فسفونو- الیگوپپتید ریزوکتیسین[1] تولید شده توسط *B. subtilis* دارای فعالیت نماتدکشی است. باکتری *B. subtilis* با تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک مانند گلوکاناز، پروتئاز و آنتی بیوتیک‌های مانند لیپوپپتید سورفاکتین، فنجاسین و ایتیورین A قادر به فعالیت علیه قارچها و نماتدها هستند (۳۰). چن‌آن در سال ۲۰۱۳، باکتری *B. subtilis* را در کنترل نماتد *M. incognita* مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که این باکتری موجب کاهش فاکتورهای تکثیری و نفوذ نماتد به داخل بافت می‌گردد. همچنین میزان فعالیت نماتدکشی باکتری با فعالیت پروتئولیتیک آن در ارتباط است (۳). این نتایج با تحقیق رویزر و همکاران نیز مطابقت داشت که نشان دادند که باکتری *B. subtilis* با تولید متابولیت‌های سمی علیه نماتد ریشه گرهی *M. incognita* موثر است (۳۴). در تحقیق دیگر مشخص شده است که استرین‌های باکتریایی مانند *B. mycoides* اثر معنی-داری روی کاهش تعداد گال و نرخ تکثیر نماتد ریشه‌گرهی *M. ethiopica* دارند و این بازدارندگی را مرتبط با متابولیت های ثانویه تولید شده توسط باکتری می‌دانستند که احتمالاً سبب لیز شدن تخم نماتد و از بین رفتن آنها می‌شود (۱). داور نیز نشان داد که باکتری *B. subtilis* به طور قابل توجهی تفریخ تخم نماتد *M. javanica* را در شرایط آزمایشگاه کاهش می‌دهد (۵). نحوه تأثیر باکتری‌های آنتاگونیست علیه نماتدهای گیاهی، نشان‌دهنده دخالت آنزیم‌های خارج سلولی باکتری در این پدیده است و از آن به عنوان فاکتور بیماریزایی موثر در نفوذ باکتری به داخل کوتیکول نماتد یاد شده است (۷). همچنین باکتری *B. subtilis* سبب کاهش تولید گال *M. incognita* بر روی فلفل و خربزه شده است (۱۷). آنزیم‌ها، متابولیت ها و مواد سمی تولید شده توسط گونه‌های جنس باسیلوس در کنترل نماتدها موثر شناخته شدند که مهمترین عامل، آنزیم‌های خارج سلولی نظیر پروتئازها می باشند (۳۲). تحقیقات زیادی بر روی اثر بازدارندگی گونه‌های مختلف جنس باسیلوس علیه گونه‌های بیمارگر *Meloidogyne* بر روی گیاهان مختلف انجام پذیرفته است (۹، ۲۴،۲۹) که میزان فعالیت باکتری همچنین میزان کنترل عوامل بیماری‌زا توسط آنها به کلنیزاسیون موثر ریشه توسط این باکتری بستگی دارد.

**جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص رشدی *M. javanica* در سه پایه هلو مایه‌زنی شده با باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* در شرایط گلخانه**

**Table 3- Mean comparison of the growth parameters of *M. javanica* on three peach rootstocks inoculated with *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* in greenhouse conditions**

| رقم<br>Treatment | باکتری<br>Bacteria | تعداد گال در ۱ گرم ریشه<br>No. gall/1 gr root | تعداد کیسه تخم در ۱ گرم ریشه<br>No. egg masses/1gr root | تعداد تخم در هر کیسه تخم<br>No. eggs/ egg mass | تعداد لارو سن ۲ در ۱۰۰ گرم خاک<br>No. J2 n/100 gr soil | فاکتور تولید مثل<br>Reproductive factor |
|---|---|---|---|---|---|---|
| هلندری<br>Helendri | ۰ | 45.4$^{b}$ | 46.4$^{b}$ | 42.8۸$^{b}$ | 28.6$^{b}$ | 4.6$^{b}$ |
| | BS | 23.6$^{e}$ | 20$^{f}$ | 31.8$^{c}$ | 9.8$^{d}$ | 1.8$^{c}$ |
| | BC | 23.4$^{e}$ | 24.8$^{fe}$ | 32.6$^{c}$ | 16.4$^{c}$ | 1.9$^{c}$ |
| GF677 | ۰ | 69.8$^{a}$ | 70$^{a}$ | 82.2$^{a}$ | 51.8$^{a}$ | 19.3$^{a}$ |
| | BS | 36$^{c}$ | 37.2$^{dc}$ | 38.2$^{bc}$ | 23.6$^{b}$ | 2.5$^{bc}$ |
| | BC | 41.4$^{b}$ | 41.2$^{bc}$ | 39.6$^{bc}$ | 25.8$^{b}$ | 3.3$^{bc}$ |
| شورابی<br>Shorabi | ۰ | 42.8$^{b}$ | 42$^{bc}$ | 39.4$^{bc}$ | 24.4$^{b}$ | 2.1$^{bc}$ |
| | BS | 29.4$^{d}$ | 27.6$^{fe}$ | 34.4$^{c}$ | 16.4$^{c}$ | 1.4$^{c}$ |
| | BC | 26.8$^{d}$ | 31.2$^{de}$ | 34.6$^{c}$ | 15.6$^{c}$ | 1.1$^{c}$ |

BS: B. subtilis

BC: B. cereus

$Rf = \frac{Pf}{Pi}$ نسبت جمعیت نهایی به اولیه نماتد

RF : The ratio of the final population to the initial population of the nematode

با استفاده از آزمون LSD میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند ، هر تیمار نیز میانگین پنج تکرار می‌باشد.

Values followed by the same letter are not significantly different using LSD test (P≤0.05, n= 5)

1- Phosphono-oligopeptide rhizocticin

در تحقیق حاضر بررسی فاکتور تولیدمثل که شاخص مهمی در برآورد میزان خسارت نماتد می‌باشد نشان داد که بین تیمار مایه‌زنی شده با نماتد به تنهایی با دیگر تیمارهای مایه‌زنی شده با عوامل باکتری‌های بیوکنترلی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. با توجه به بالا بودن جمعیت نماتد ریشه‌گرهی و خسارت شدید آن در باغات هلو، و مقرون به صرفه نبودن و خطرات مصرف نماتدکش‌ها، دامنه میزبانی گسترده آنها می‌توان استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک را در برنامه مدیریت تلفیقی با نماتد ریشه‌گرهی قرار داد. البته بررسی‌های آینده در خصوص کاربرد ترکیبی این باکتری‌ها با یکدیگر و با قارچهای کنترل کننده و حتی کودهای دامی در سطح باغات هلو لازم به نظر می‌رسد.

یافته‌های این تحقیق نشان دهنده‌ی اثر کنترلی باکتری‌های بیوکنترلی مورد استفاده بر تکثیر و خسارت نماتد ریشه‌گرهی بود. به طوری که با افزایش شاخص‌های رشدی گیاه سبب کاهش خسارت نماتد گردید. هرچند باکتری‌های مورد استفاده روی هر سه پایه مؤثر بودند ولی به دلیل حساسیت بیشترGF677 به نماتد ریشه‌گرهی نسبت به ارقام هلندری و رقم محلی شورابی اثر عوامل باکتریایی روی پایه مذکور کمتر از دو پایه دیگر ظاهر شد.

## منابع


1- Aballay E., Ordenes P., Martensson A., Persson P. 2013. Effects of rhizobacteria on parasitism by *Meloidogyne ethiopica* on grapevines. European Journal of Plant Pathology 135(1): 137-145.

2- Agrawal D.P.K. and Agrawal Sh. 2013. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) for their use as potential plant growth promoting rhizobacteria. International Journal of Current Microbiology Applied Science 2(10): 406-417.

3- Chin Ann Y. 2013. Screening for Nematicidal Activities of *Bacillus* Species Against Root Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*). American Journal of Experimental Agriculture 3(4): 794-805.

4- Custódio C.C., de Araújo F.F., Ribeiro A.M., Filho N.V., and Machado-Neto N.B. 2013. Seed treatment with *Bacillus subtilis* or indol butyric acid: germination and early development of bean seedlings. Interciencia 38(4): 273-279.

5- Dawar S., Tariq M., and Zaki M.J. 2008. Application of *Bacillus* species in control of *Meloidogyne javanica* (Treub) chitwood on cowpea and mash bean. Pakistan Journal of Botany 40: 439-444.

6- Gardener BBM. 2004. Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. In agricultural systems. Phytopathplogy 94: 1252-125.

7- Huang X., Niu Q., Yang J., and Zhang K. 2005. *Bacillus nematocida* sp. Nov., a novel bacterial strain with nematotoxic activity isolated from soil in Yunnan, Chain. Systematic and Applied Microbiology 28: 323-327.

8- Huang Y., Xu C., Ma L., Zhang K., Duan C., and Mo M. 2009. Characterization of volaties produced from *Bacillus megaterium* YFM 3.25 and their nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* European Journal of Plant Pathology 26: 417-422.

9- Huang Y., Xu C.K., Ma L., Zhang K.Q., Duan C.Q., and Mo M.H. 2010. Characterization of volatiles produced from *Bacillus megaterium*YFM 3.25 and their nematicidal activity against *Meloidogyne incognit.* European Journal of Plant Pathology 126: 417–422.

10- Hussey R.S., and Barker K.R. 1973. Comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025–1028.

11- Hashema M., and Abo-Elyousr K.M. 2011. Management of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combinations of different biocontrol organisms, Crop Protection 30: 285-292.

12- Jepson S.B. 1987. Identification of root Knot nematode (*Meloidogyne* species). CAB. International, Wallingford, Oxon, United kingdom, 265 pp.

13- Jones J.T., Haegeman A.D., Danchin E.G., Gaur H.S., Helder M.G., Jones T., Kikuchi R., Manzanillia R., Lopez J.E., Palomares-Rius W.I.M.M.L., Wesemael R.N., and Perry O. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology Mol. Plant Pathology 14: 946-961.

14- Faostat. 2012. Available in http://faostat.fao.org/

15- Khalil M.S., Kenawy A., Gohrab M.A., and Mohammed E.E. 2012. Impact of microbial agents on *Meloidogyne incognita* management and morphogenesis of tomato. Journal Biopest 5(1): 28-35.

16- Kilian M., Steiner U., Krebs B., Junge H., Schmiedeknecht G., and Hain R. 2000. Mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 1: 72-93.

17- Kokalis-Burelle N., and Samac D.A. 2003. Use of gram–positive bacteria as biological control agents for plant parasitic nematodes. Journal of Nematology 35: 347-348. (Abst.)

18- Korayem A.M., El-Bassiouny HMS., El-Monem AAA., and Mohamed MMM. 2012. Physiological and biochemical changes in different sugar beet genotypes infected with root-knot nematode. Acta Physiologiae Plantarum 34(5): 1847-1861.

19- Nagesh M., Asokan R., and Mohan K. 2005. Partial characterization of novel nematicidal toxins from *Bacillus cereus* Frankland 1887 and their effect on root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood Journal of Biological Control 19:65-69.

20- Nyczepir A.P., Riley M.B., and Sharpe R.R. 1993. Dynamics of concomitant populations of *Meloidogyne incognita* and *Cticonemella xenaplax* on peach. Journal of Nematology 25: 659-665.

21- Oka Y., Chet I., and Spiegel Y. 1993. Control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. Biocontrol Science and Technology 3(2): 115-126.

22- Oostenbrink M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen 66(4): 1-46.

23- Oyekanmi E.O., Coyneb D.L., Fagadea O.E., and Osonubia O. 2007. Improving root-knot nematode management on two soybean genotypes through the application of *Bradyrhizobium japonicum, Trichoderma pseudokoningii* and *Glomus mosseae* in full factorial combinations. Crop Protection 26: 1006–1012.

24- Poi SC., and Kabi MC. 1979. Effect of *Azotobacter* inoculation on the growth and yield of jute and wheat. Indian Journal of Agricultural Sciences 49(6): 478-480.

25- Pegard A., Brrizzard G., Fazari A., Soucaze O., Abad P., and Djian- Caporalino C. 2004. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related phenolics accumulation in *Capsium annuum*. Phytopathology 95: 158-165.

26 -Sasser JN., and Freckman DW. 1987. Aword perspective on nematology: the role of the society. In: Veech, J A, Dickson DW (ed.), Vistas on Nematology, Society of Nematologists, Hyatsville.7-14 pp.

27 -Siddiqui ZA., and Mahmood I. 1999. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: a review. Bioresource Technology 69: 167-179.

28- Siddiqui ZA., and Akhtar MS. 2009. Effects of antagonistic fungi, plant growth-promoting rhizobacteria, and arbuscular mycorrhizal fungi alone and in combination on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. Journal of General Plant Pathology 75(2): 144-153.

29- Siddiqui Z.A., Qureshi A., and Akhtar M.S. 2009. Biocontrol of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates on *Pisum sativum*, Arch. Phytopathol. Plant Protection 42: 1154-1164.

30- Singh P., and Siddiqui Z.A. 2010. Biocontrol of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by the isolates of *Bacillus* on tomato. Archives of Phytopathology and Plant Protection 43(6): 552-561.

31-Taylor D.P., and Netscher C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica 20: 268-269.

32- Tian B., Li N., Lian L., Liu J., Yang J., and Zhang K.Q. 2006. Cloning, expression and deletion of the cuticle degrading protease BLG4 from nematophagous bacterium *Brevibacillus laterosporus* G4. Arch. Microbiology 186: 297–305.

33- Reva O.N., Dixelius C., Meijer J., and Priest F.J. 2004. Taxonomic characterization and plant colonizing abilities of some bacteria elated to *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*, FEMS Microbiol. Ecology 48: 249–259.

34- Ruiz SE., Cristóbal AJ., Reyes RA., Tun SJ., García RA., and Pacheco AJ. 2014. In vitro antagonistic activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soils of the Yucatan Peninsula against *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne incognita* . FYTON ISSN, 83: 45-47.

35- Walters DR., Ratsep J., and Havis ND. 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. Journal of Experimental Botany 64(5): 1263-1280.

**Journal of Plant Protection**
**Vol. 34, No. 3, Fall 2020, P. 337-346**

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، ص. ۳۴۶-۳۳۷

# The Effect of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* on Pathogenicity of *Meloidogyne javanica* in Three Rootstocks of Peach under Greenhouse Condition

**A. Abdollahi Arjenaki[1]- N. Panjehkeh[2]- A.A. Fadaei Tehrani[3]*- M. Salari[4]- A.H. Taheri[5]**
Received: 29-07-2020
Accepted: 14-09-2020

**Introduction:** Plant–parasitic nematodes, especially root-knot nematodes, cause a lot of damage to most agricultural products and a lot of efforts are made to control them. Biological control is one of the most widely studied methods to reduce nematode damage. This study aimed to evaluate the effect of two bacteria including *Bacillus cereus* IPRI95 and *B. subtilis* VUPF52 on the infection of *Meloidogyne javanica* on three rootstocks under greenhouse conditions.

**Materials and Methods:** This study was performed as a factorial experiment in a completely randomized design with five replications. In this way, the soil of the pots was disinfected before planting the seedlings, and then the seedlings were planted. After the establishment of the rootstocks, a three-day liquid culture peach for each bacterial isolate was prepared with a concentration of $10^7$ colony-forming units in milliliters (CFU / ml) and 15 ml of suspension from each bacterium to the soil around the seedlings were added in each treatment. Two days after treating the plants with bacteria in the pots, inoculation with 2000 eggs with larvae of nematodes per kilogram of soil, entered into 3 holes created around the seedlings and then covered with soil these holes. Experimental plants to pass at least three generations of nematodes, three months in suitable greenhouse conditions with a temperature of 20 to 25 degrees, relative humidity 60-80% and optical period (13 hours of light, 11 hours of darkness) maintenance and regular watering twice in the week was over. At the end of the experiment, plant growth indices include (length, fresh and dry weight of shoots, length, fresh and dry weight of roots) and nematode growth parameters including (number of galls, number of second larvae (j2), number of egg mass in plant roots and number Eggs per egg mass, as well as a reproductive factor (RF), were measured an statistically analyzed using SAS 9.4 software. A comparison of mean treatments in all cases was performed by LSD-protected test at 5%.

**Results and Discussion:** Nematode contamination in the absence of biocontrol agents significantly reduced the growth index at all levels compared to other treatments. So the peeling of peach bases with nematode reduces the stem length by 34% and 30% in GF677 and Shorabi local cultivars, respectively, compared to the control treatment. The results of comparing the means between treatments in GF677 showed that stem length in these plants treated with two bacterial strains increased significantly compared to the control. Root length also decreased by 14 and 50 percent in Helendri and GF677 cultivars, respectively, following infection with nematode compared to control treatment. However, following the treatment of peach roots with bacterial strains, we saw a significant increase in root length, so that the maximum root length in Helendri cultivar in treatment with *B. subtillis* strain and GF677 cultivar followed by treatment with *B. cereus* was obtained. Statistical analysis showed that the two bacterial isolates mentioned, in addition to affecting the growth factors of vegetative bases, also had a significant effect on nematode growth and development indicators and disease reduction. So that the number of eggs and egg mass decreased in all three cultivars. The mean number of galls per gram of root in GF677 treated with *B. subtilis* and *B. cereus* bacteria decreased by 48.4% and 40.68%, respectively, compared to the non-bacterial control. The results of this study also showed that the $J_2$ population in treatments with nematodes alone compared with treatments with bacteria have a significant difference. The number of $J_2$ larvae in the presence of *B. subtilis* bacteria decreased by 67.73, 52.52 and 12.6% in Helendri cultivars, GF677 and local cultivar Shorabi compared to the control. The use of biological bacteria affected all stages of nematode growth and development. However, the ability of bacteria to reduce nematode reproductive factors was significant in the nematode-sensitive cultivar (Gf). The findings of this study showed the controlling effect of

1, 2 and 4- Ph.D. Student of Plant Pathology and Associate Professors, Plant Protection Department, Faculty of Science and Agricultural Engineering, University of Zabol, Zabol, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: ma_fadaei@yahoo.com)
3- Associate Professor, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
5- Associate Professor of the Center for Board of Trustees and Audit Boards of the Ministry of Science, Research and Technology

biocontrol bacteria used on the propagation and damage of root-knot nematodes. So that by increasing plant growth indices, nematode damage was reduced. Although the bacteria used were effective on all three rootstocks, due to GF677 being more sensitive to root-knot nematodes than Helendri cultivars and the local cultivar Shorabi, the effect of bacterial agents on the rootstock was less than the other two rootstocks.

**Keywords:** *Bacillus*, Biocontrol, Root-knot nematode, Peach rootstocks